Trad.: Françoise Khayat Farineau
Job Y6398F

RAPPORT

Consultation mixte d'experts FAO/OMS sur l'évaluation des propriétés sanitaires et nutritionnelles des probiotiques dans les aliments, y compris le lait en poudre contenant des bactéries lactiques vivantes

Cordoba, Argentine
1er - 4 octobre 2001

Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

Organisation mondiale de la santé

TABLE DES MATIÈRES

1. Introduction

Une consultation mixte d'experts FAO/OMS (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture/Organisation mondiale de la santé) s'est tenue à l'Amerian Cordoba Park Hotel, à Cordoba (Argentine) du 1er au 4 octobre 2001; elle avait pour thème les propriétés sanitaires et nutritionnelles du lait en poudre contenant des bactéries lactiques vivantes. La Consultation, qui était la première réunion de ce groupe, s'est concentrée sur l'évaluation des preuves scientifiques disponibles concernant les propriétés, le fonctionnement, les effets bénéfiques, la sécurité sanitaire et les caractéristiques nutritionnelles des aliments probiotiques. Y ont participé au total 11 experts de dix pays. La liste complète des participants figure à l'Appendice 1.

Le Ministre de la production de la province de Cordoba, M. Juan Schiaretti, a ouvert la Consultation. Il a reconnu la nécessité de preuves scientifiques solides pour corroborer les effets bénéfiques des aliments probiotiques sur la santé. M. Victor Faraudo, secrétaire à l'agriculture de la province de Cordoba, M. Carlos Debandi, président de la Cordoba Science Agency, et M. Eduardo Echaniz, coordonnateur du Comité national du Codex, ont également prononcé des discours. M. Jorgen Schlundt et Mme Maya Pineiro se sont exprimés au nom de l'Organisation mondiale de la santé et de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Dans leurs déclarations, ils ont souligné l'importance des probiotiques pour la santé humaine, en particulier en ce qui concerne leur potentiel dans les pays en développement.

La Consultation a élu M. Gregor Reid président et Mme Catherine Stanton rapporteur.

2. Généralités

Les effets bénéfiques sur la santé des aliments contenant des microbes vivants (probiotiques), et en particulier des produits laitiers, sur les enfants et d'autres groupes de population à haut risque sont de plus en plus vantés par les professionnels de la santé. Il a été signalé que ces probiotiques peuvent jouer un rôle important dans les fonctions immunologiques, digestives et respiratoires et pourraient avoir un effet sensible en réduisant les maladies infectieuses chez les enfants.

Etant donné qu'il n'y a pas actuellement de consensus international sur la méthode à suivre pour évaluer l'efficacité et la sécurité sanitaire de ces produits, il a été jugé nécessaire de convoquer une Consultation d'experts pour étudier et proposer des directives générales pour ces évaluations.

La Consultation a réuni des experts du monde entier pour examiner les informations et les données scientifiques les plus récentes sur les aspects fonctionnels et ceux liés à la sécurité sanitaire des probiotiques, ainsi que la méthode pour évaluer ces divers aspects.

3. Objectif

La Consultation est convenue que l’objectif de la réunion comprendrait les probiotiques et les prébiotiques dans les aliments, et excluerait la référence aux agents biothérapeutiques et aux microorganismes bénéfiques non utilisés dans les aliments. La Consultation a redéfini les probiotiques dans le but de cette réunion comme “Microorganismes vivants qui, lorsqu’ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l’hôte” mais a limité le thème de son examen aux “Microorganismes vivants qui, lorsqu’ils sont ingérés en quantités adéquates, comme partie d’un aliment[1], exercent une action bénéfique sur la santé de l’hôte”. La Consultation est convenue que les questions spécifiques concernant le lait en poudre ne pourraient pas être examinées sans un examen plus général des probiotiques dans les aliments.

La Consultation est convenue de limiter son examen aux points suivants:

a) Propriétés des souches probiotiques et leur évaluation;
b) Spécifications des produits probiotiques, assurance de qualité et questions de réglementation;
c) Sécurité sanitaire et effets bénéfiques sur la santé.

La Consultation a fondé ses débats sur des documents de travail et des communications concernant:

La taxonomie et la physiologie des bactéries lactiques, les effets et la fonction sur la nutrition (Morelli L)

Les applications technologiques et commerciales des bactéries lactiques; leurs propriétés sanitaires et nutritionnelles dans les produits laitiers (Gilliland S)

Aspects réglementaires et cliniques des probiotiques laitiers (Reid G)

La Consultation s’est focalisée sur les souches disponibles en tant que probiotiques dans les aliments. Bien qu’elle n’ait pas abordé spécifiquement les questions liées aux organismes génétiquement modifiés, les concepts et les principes sont également applicables à tous les probiotiques. On a reconnu l’importance potentielle des souches probiotiques utilisées dans les aliments pour animaux du fait qu’elles se rapportent à la santé humaine.

4. Histoire des probiotiques

Le terme “probiotique” est un mot relativement nouveau qui signifie “en faveur de la vie” et qui est actuellement utilisé pour désigner des bactéries associées à des effets bénéfiques chez l’homme et les animaux. L’observation originale du rôle positif joué par quelques bactéries sélectionnées est attribuée à Eli Metchnikoff, d’origine russe, lauréat du Prix Nobel qui travaillait à l’Institut Pasteur au début du siècle dernier et qui a suggéré que "la dépendance des microbes intestinaux vis-à-vis des aliments rend possible l’adoption de mesures pour modifier la flore dans nos corps et remplacer les microbes dangereux par des microbes utiles" (Metchnikoff, 1907).

A cette époque, Henry Tissier, pédiatre français, a observé que les selles des enfants souffrant de diarrhée contenaient un petit nombre de bactéries caractérisées par une morphologie particulière en forme de

---

[1] L’eau est incluse au nombre des aliments.

Y. Ces bactéries “bifides” étaient au contraire abondantes chez les enfants sains (Tissier, 1906). A son avis, ces bactéries pourraient être administrées aux patients souffrant de diarrhée pour aider à rétablir une flore intestinale saine.

Ce sont Metchnikoff et Tissier qui ont été les premiers a avancé dans leurs travaux des propositions scientifiques au sujet de l’utilisation probiotique des bactéries, même si le mot "probiotique" n’a été forgé qu’en 1960, pour désigner des substances produites par des microorganismes qui favorisaient la croissance d’autres microorganismes (Lilly et Stillwell, 1965). Afin de souligner la nature microbienne des probiotiques, Fuller (1989) a redéfini le terme comme suit: "Un complément nutritionnel microbien vivant qui a un effet positif sur l’animal hôte en améliorant son équilibre intestinal". Une définition très semblable a été proposée par Havenaar et Huis in 't Veld (1992) "une culture viable composée d’une ou d’un mélange de bactéries qui, lorsqu’elle est appliquée à l’animal ou à l’homme, exerce un effet bénéfique sur l’hôte en améliorant les propriétés de la flore indigène". Une définition plus récente, qui n’est probablement pas la dernière est: "microorganismes vivants, qui lorsqu’ils sont consommés en quantités adéquates, ont un effet bénéfique sur la santé de l’hôte" (Guarner et Schaafsma, 1998).

Il est clair que ces définitions ont:

1) restreint l’emploi du mot probiotique aux produits qui contiennent des microorganismes vivants
2) souligné la nécessité de fournir une dose appropriée de bactéries probiotiques afin d’exercer les effets souhaités.

Les observations de Metchnikoff et de Tissier étaient si attrayantes qu’une exploitation commerciale a immédiatement suivi leurs travaux scientifiques. Malheureusement, les résultats n’ont pas toujours été positifs et la grande partie des observations étaient anecdotiques. Le concept probiotique a donc été considéré comme scientifiquement non démontré et il n’a guère suscité d’intérêt pendant des décennies, mis à part quelques recherches concernant l’alimentation des animaux, afin de trouver des substituts sains des anabolisants. Au cours des vingt dernières années toutefois, la recherche dans le domaine probiotique a fait des progrès considérables en ce qui concerne la sélection et la caractérisation des cultures probiotiques spécifiques et la justification des allégations santé liées à leur consommation.

Des membres du genre *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* sont maintenant utilisés, mais non exclusivement, comme microorganismes probiotiques et un nombre croissant d’aliments probiotiques sont offerts au consommateur. Quelques considérations écologiques sur la flore intestinale sont nécessaires pour comprendre l’importance, pour la santé humaine, du concept d’aliment probiotique.

Les bactéries sont normalement présentes chez l’homme (ainsi que chez les animaux supérieurs et les insectes), y compris dans le tractus gastro-intestinal, où l’on dénombre plus de 400 espèces de bactéries (passées en revue par Tannock, 1999): la moitié du poids frais des matières contenues dans le colon est représentée par des cellules bactériennes dont le nombre dépasse de 10 fois celui des cellules de tissu formant le corps humain. Normalement l’estomac contient peu de bactéries (10^3 unités formant colonies par ml de suc gastrique), alors que la concentration bactérienne augmente dans l’intestin provoquant une concentration finale dans le colon de 10^{12} bactéries/g. La colonisation bactérienne de l’intestin commence à la naissance, lorsque les nouveaux-nés sont maintenus dans un milieu stérile jusqu’à ce que l’accouchement commence, et se

poursuit pendant toute la vie, avec des changements importants en fonction de l'âge (Mitsuoka, 1992). Les bactéries qui constituent ladite microflore intestinale résidente, n'ont pas normalement d'effets négatifs aigus et certaines d'entre elles sont nécessaires pour maintenir le bien-être de leur hôte.

Comme exemple du rôle bénéfique de la microflore intestinale, il faut citer ce que l'on a appelé la "résistance à la colonisation" ou l'"effet de barrière" (van der Waaij et al., 1971; Vollaard et Clasener, 1994), c'est-à-dire le mécanisme utilisé par les bactéries déjà présentes dans l'intestin pour maintenir leur présence dans ce milieu et éviter la colonisation des mêmes sites intestinaux par des microorganismes récemment ingérés, y compris des agents pathogènes. Par conséquent, on pourrait supposer que la manipulation alimentaire de la microflore intestinale, dans le but d'augmenter les nombres relatifs de "bactéries bénéfiques", pourrait contribuer au bien-être de l'hôte. Cela était également l'hypothèse faite à l'origine par Metchnikoff qui a averti toutefois que:

"Des investigations systématiques devraient être faites sur le rapport entre les microbes des intestins et le vieillissement prématuré, et sur l'influence des régimes alimentaires qui empêchent la putréfaction intestinale en prolongeant la vie et en maintenant les forces du corps."

Cette déclaration prudente peut encore être considérée aujourd'hui comme une invitation aux scientifiques à étudier les bactéries probiotiques plus à fond et avec soin.

5. Directives pour l'évaluation des microorganismes probiotiques

Afin d'évaluer les propriétés des probiotiques, la Consultation a suggéré que les directives ci-après soient utilisées. Pour l'utilisation dans les aliments, les microorganismes probiotiques ne devraient pas seulement être capables de survivre au passage à travers le tractus gastro-intestinal mais aussi avoir la capacité de proliférer dans l'intestin. Cela signifie qu'ils doivent être résistants aux sucs gastriques et capables de se développer en présence de bile, ou être consommés dans un véhicule alimentaire qui leur permet de survivre au passage dans l'estomac et à l'exposition à la bile. Ce sont des bactéries Gram positif qui sont incluses principalement dans les deux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* (Holzapel et al., 1998; Klein et al., 1998).

5.1 Sélection des souches probiotiques destinées à l'homme

Les probiotiques doivent être capables d'exercer leurs effets bénéfiques sur l'hôte par leur croissance et/ou leur activité dans le corps humain (Collins et al., 1998; Morelli, 2000). Toutefois, c'est la spécificité de l'action, et non la source du microorganisme, qui est importante. En effet, il est très difficile de confirmer la source d'un microorganisme. Les nourrissons naissent sans aucune de ces bactéries dans l'intestin, et l'origine de la microflore intestinale n'a pas été entièrement élucidée. C'est leur aptitude à rester viables sur le site cible et à être efficaces qui devrait être vérifiée pour chaque souche potentiellement probiotique.

Il est nécessaire d'affiner les tests *in vitro* afin de prévoir l'aptitude des probiotiques à fonctionner chez l'homme. Les tests actuellement disponibles ne permettent pas de prévoir le fonctionnement des microorganismes probiotiques dans l'intestin.

5.2 *Classification et identification des souches*

La classification est l'arrangement des organismes en groupes taxonomiques (taxons) sur la base des similitudes ou des rapports. La nomenclature est l'attribution de noms aux groupes taxonomiques selon certaines règles. L'identification est une opération consistant à déterminer qu'un nouvel isolat appartient à l'un des taxons établis et nommés.

La Consultation a recommandé que les probiotiques soient nommés selon le Code international de nomenclature pour une bonne compréhension par tous. Elle a par ailleurs vivement recommandé que, dans un souci d'information complète, les souches probiotiques soient déposées dans une collection de cultures reconnue à l'échelon international.

Etant donné que les propriétés des probiotiques sont liées aux souches, l'identification des souches (typage génique) pourrait être faite à l'aide d'une méthode comme l'électrophorèse en champ pulsé. Il est recommandé que les tests phénotypiques soient effectués avant, suivis d'une identification génétique, à l'aide de méthodes telles que l'hybridation ADN/ARN, le séquençage d'ARN 16s ou d'autres méthodes internationalement reconnues. Pour ces dernières, il faudrait avoir recours au RDP (Projet de base de données sur les ribosomes) pour confirmer l'identité (www.cme.msu.edu/RDP/).

5.3 *Définition et mesure des effets bénéfiques des probiotiques sur la santé*

Un certain nombre d'effets sur la santé sont associés à l'utilisation des probiotiques. Il y a différents degrés de preuves à l'appui de la vérification de ces effets, et la Consultation reconnaît qu'il y a des rapports montrant que certaines souches probiotiques n'ont aucun effet clinique dans certaines situations (Andersson et al. 2001). Si un examen rigoureux de chaque thème n'entre pas dans le cadre de cette Consultation, on a cependant tenté de fournir des directives sur des paramètres qui serviront à mesurer les effets bénéfiques sur la santé.

L'utilisation des microorganismes probiotiques pour leurs effets bénéfiques sur la santé de l'hôte doit indiquer les doses et la durée d'utilisation comme le recommande le fabricant de chaque souche ou de chaque produit sur la base de preuves scientifiques, et comme il a été approuvé dans le pays de vente. Si cette pratique n'est pas en place actuellement, la Consultation a vivement recommandé que chaque produit indique la quantité journalière minimale requise pour qu'il exerce des effets bénéfiques spécifiques sur la santé. Ces preuves devraient, si possible, dériver d'études *in vitro*, chez les animaux (le cas échéant) et chez l'homme. Des exemples sont donnés ci-dessous pour illustrer des études sur des souches particulières et des résultats cliniques. Ce faisant, l'accent ne devrait pas être mis sur une souche particulière considérée supérieure à une autre, mais sur l'effet bénéfique procuré, et les méthodes utilisées pour obtenir et mesurer lesdits effets sont de la plus haute importance.

5.3.1 Troubles associés au système gastro-intestinal

5.3.1.1 Prévention de la diarrhée due à certaines bactéries ou à certains virus pathogènes

La diarrhée d'origine infectieuse est un grave problème sanitaire mondial, responsable chaque année de la mort de plusieurs millions de personnes. Si la majorité des décès se produit parmi les enfants des pays en développement, on estime que jusqu'à 30% de la population même dans les pays développés souffre chaque année de diarrhée d'origine nutritionnelle. Les probiotiques pourraient constituer un important moyen de réduire ces problèmes. Il y a lieu de noter que certaines des études citées ci-dessous comme source de référence utilisent des probiotiques administrés sous une forme non alimentaire.

L'effet bénéfique de souches définies de probiotiques a parfaitement été démontré à l'aide de *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Bifidobacterium lactis* BB-12 pour la prévention (Saavedra et al., 1994; Szajewska et al., 2001) et avec le traitement (Isolauri et al., 1991; Guarino et al., 1997; Majamaa et al., 1995; Shornikova et al., 1997; Perdone et al., 1999; Guandalini et al., 2000) de la diarrhée aiguë causée principalement par des rotavirus chez les enfants.

Outre les infections à rotavirus, de nombreuses espèces bactériennes causent la mort et la morbidité chez l'homme. Il y a de bonnes preuves *in vitro* que certaines souches probiotiques peuvent inhiber la croissance et l'adhérence d'une gamme d'entéropathogènes (Coconnier et al., 1993, 1997; Hudault et al., 1997; Gopal et al., 2001; Bernet Camard et al., 1997), et des études sur les animaux ont indiqué des effets bénéfiques contre des agents pathogènes tels que *Salmonella* (Ogawa et al., 2001; Shu et al., 2000). Il ressort de certaines études de la diarrhée du voyageur, où l'on suppose que certains des agents pathogènes responsables sont de nature bactérienne, que les effets bénéfiques peuvent augmenter avec l'administration de probiotiques (Hilton et al., 1997).

Il est important de noter que la thérapie probiotique de la diarrhée aiguë devrait être associée si possible à la réhydratation. Les recommandations actuelles de l'OMS sont que la gestion clinique de la diarrhée aiguë devrait inclure le remplacement des pertes de fluide et d'électrolytes, ainsi qu'un soutien nutritionnel (OMS, 1995). On a largement utilisé les sels pour réhydratation orale (SRO) dans le traitement de cette maladie, et c'est dans ce contexte que le traitement combiné avec des probiotiques est préconisé. Des effets tels que la restauration probiotique de la microflore intestinale dominée par des agents non pathogènes après infection, maintenant l'intégrité des muqueuses et améliorant l'équilibration électrolytique, pourraient avoir un effet sensible sur des programmes de traitement et de prévention de la diarrhée aiguë dans les pays en développement.

Un problème grave associé au traitement antibiotique est l'apparition de la diarrhée, souvent causée par *Clostridium difficile*. Cet organisme n'est pas rare dans un tractus intestinal sain, mais le bouleversement de la microflore indigène par des antibiotiques provoque une augmentation anormale de leur nombre et d'autres symptômes liés à la production de toxines. La raison d'utiliser des probiotiques est donc que chez ces patients, l'administration de microorganismes commensaux exogènes (c'est-à-dire de probiotiques) est nécessaire pour ramener la microflore à un état qui reflète le plus fidèlement la flore normale avant la thérapie antibiotique. Certaines études encore non conclues ont montré en effet que cette approche peut atténuer les signes et les symptômes de l'infection par *C. difficile* (Gorbach et al., 1987; Biller et al., 1995; Bennet et al., 1986). Concernant la diarrhée associée aux antibiotiques, les probiotiques se sont révélés utiles comme

traitement préventif, et potentiellement, ils peuvent être utilisés pour atténuer les signes et les symptômes une fois que la diarrhée due aux antibiotiques s'est produite (Arvola et al., 1999; Vanderhoof et al., 1999; Armuzzi et al., 2001). Il faut reconnaître que la preuve d'effets thérapeutiques contre *C. difficile,* et d'autres troubles a été obtenue à l'aide de certaines souches probiotiques, telles que *L. rhamnosus* GG. Il est important de noter que ces effets peuvent aussi être obtenus par d'autres souches, mais des preuves scientifiques pourraient ne pas être encore disponibles ou les microorganismes en jeu pourraient ne pas être inclus dans le programme de cette Consultation.

5.3.1.2 Infection par *Helicobacter pylori* et complications

Concernant les applications des probiotiques, on a également découvert qu'ils sont actifs contre *Helicobacter pylori,* un agent pathogène Gram négatif responsable de la gastrite de type B, d'ulcères peptiques et du carcinoïde gastrique. Les données *in vitro* et sur les animaux indiquent que les bactéries lactiques peuvent inhiber la croissance des agents pathogènes et diminuer l'activité des uréases nécessaire pour que l'agent pathogène reste dans le milieu acide de l'estomac (Midolo et al., 1995; Kabir et al., 1997; Aiba et al., 1998; Coconnier et al., 1998). Les données concernant l'homme sont limitées, mais il y a des preuves d'un effet induit par *L. johnsonii* La1 (Michetti et al., 1999). En termes de mesure des effets des probiotiques, des objectifs réalisables comprennent la suppression de l'infection (qui peut être réversible après interruption du traitement), le traitement combiné avec des antibiotiques provoquant quelques effets secondaires tels que le reflux à l'acide et un risque plus faible d'infection récurrente (Michetti et al., 1999; Canducci et al., 2000; Felley et al., 2001). Des études contrôlées contre placebo sont nécessaires avant que des allégations spécifiques puissent être faites pour des effets bénéfiques des probiotiques contre *Helicobacter pylori* en ce qui concerne la prévention et le traitement. Ces études sont justifiées compte tenu des preuves préliminaires à l'appui de ces effets.

5.3.1.3 Maladies inflammatoires et troubles intestinaux

Les maladies intestinales inflammatoires, telles que la pochite et la maladie de Crohn, ainsi que le syndrôme du colon irritable, peuvent être causés ou aggravés par des altérations dans la flore intestinale incluant l'infection (Shanahan, 2000). Il y a de nouveaux champs d'investigation, bien qu'il soit prématuré d'affirmer que les probiotiques agissent efficacement dans ces conditions. Selon certaines études, les probiotiques pourraient jouer un rôle dans la thérapie et la prophylaxie et des combinaisons de souches pourraient avoir un rôle à jouer dans le traitement thérapeutique (Gionchetti et al., 2000; Gupta et al., 2000). La microflore intestinale joue probablement un rôle décisif en cas d'inflammation de l'intestin et les probiotiques pourraient y remédier grâce à la modulation de la microflore. Des études cliniques et mécaniques devraient être conduites au plus vite pour mieux comprendre l'interface entre les microbes, les cellules hôtes, le mucus et les défenses immunologiques, et pour créer des interventions efficaces. Ces études devraient inclure l'examen moléculaire de la flore intestinale (pas seulement fécale) et les effets à long terme (5-10 ans) des microorganismes probiotiques.

5.3.1.4 Cancer

Il a déjà été démontré que les microorganismes probiotiques peuvent prévenir ou retarder l'apparition de certains cancers. Cela vient de la connaissance que les membres de la microflore intestinale peuvent produire

des cancérogènes tels que les nitrosamines. Par conséquent, l'administration de lactobacilles et de bifidobactéries pourrait théoriquement modifier la flore, réduisant les niveaux de β-glucuronidase et des cancérogènes (Hosada et al., 1996). En outre, il y a des preuves que la réapparition du cancer sur d'autres sites, par exemple la vésicule urinaire peut être réduite par l'instillation intestinale de probiotiques dont *L. casei* Shirota (Aso et al., 1995). Des études *in vitro* avec *L. rhamnosus* GG et des bifidobactéries et une étude *in vivo* utilisant des souches de *L. rhamnosus* GG et LC-705 ainsi que *Propionibacterium* sp. ont montré une diminution dans la disponibilité d'aflatoxines cancérogènes dans la lumière intestinale (El-Nezami et al., 2000; Oatley et al., 2000). Toutefois, il est trop tôt pour tirer des conclusions cliniques concernant l'efficacité des probiotiques dans la prévention du cancer.

La Consultation n'était pas convaincue qu'il existe des preuves suffisantes d'une corrélation entre les probiotiques et des effets anticancéreux spécifiques et a vivement encouragé à entreprendre des études approfondies. Ces études doivent utiliser des marqueurs internationalement reconnus pour le cancer, ou les risques de cancer, et évaluer ces marqueurs ainsi que la présence de lésions cancérogènes ou de tumeurs sur une période suffisamment longue pour la prévention du cancer primaire et la réduction de la fréquence des rechutes.

5.3.1.5 Constipation

La capacité de la thérapie probiotique d'atténuer la constipation (selles difficiles, dureté excessive des selles, transit intestinal lent) est controversée, mais pourrait être une caractéristique des souches sélectionnées. Des études d'efficacité randomisées et contrôlées contre placebo visant à explorer ces effets sont très recommandées.

5.3.2 Immunité des mucoses

Les systèmes innés et immunitaires adaptatifs sont les deux compartiments décrits traditionnellement comme étant importants pour la réponse immunitaire. Les macrophages, les neutrophiles, les cellules NK et le complément de sérum représentent les principales composantes du système inné, chargé de la première ligne de défense contre de nombreux microorganismes. Néanmoins, il y a de nombreux agents que ce système est incapable de reconnaître. Le système adaptatif (cellules B et T) fournit des moyens supplémentaires de défense, tandis que les cellules du système inné modulent le début et la direction ultérieure des réponses immunitaires adaptatives. Les cellules NK, y compris les cellules T gamma/delta, régulent le mal de l'air, ce qui laisse à penser que les interleukines jouent un rôle important. Une injection intraveineuse, intrapéritonéale et intrapleurale de *L. casei* Shirota chez la souris a augmenté sensiblement l'activité des cellules NK des cellules du ganglion mésentérique, mais pas celle des cellules des plaques de Peyer ou des cellules de la rate (Matsuzaki and Chin, 2000), ce qui corrobore l'idée que certaines souches probiotiques peuvent renforcer la réponse immunitaire innée.

Un certain nombre d'études ont été effectuées *in vitro* et chez les animaux (Gill et al., 2000) qui montrent clairement que des souches probiotiques peuvent modifier les paramètres immunitaires. Le rapport entre ces conclusions et ce qui se produit dans le corps humain n'est pas encore très clair, mais les preuves augmentent que ces effets ont bien lieu. Dans une série d'essais randomisés et contrôlés à double insu contre placebo, il a été démontré que la consommation alimentaire de *B. lactis* HN019 et de *L. rhamnosus* HN001 a débouché sur un renforcement mesurable des paramètres immunitaires chez les personnes âgées (Arunachalam et al., 2000; Gill et al., 2001; Sheih et al., 2001).

La modulation probiotique de l'immunité de l'hôte est un domaine très prometteur pour la recherche. Des données à l'appui commencent à être disponibles, telles que celles montrant que les microorganismes probiotiques peuvent renforcer l'activité des cellules NK chez les personnes âgées (Gill et al., 2001) et que les défenses de l'hôte non spécifiques peuvent être modulées (Donnet-Hughes et al., 1999; Perdigon et al., 1999).

Il est nécessaire de préciser si les activités qui sont préconisées sont conçues de manière à avoir lieu chez des personnes saines ou des sujets ayant des maladies connues. Certains des facteurs critiques intervenant dans les défenses de l'hôte ont été identifiés et comprennent l'induction de la production de mucus ou l'activation des macrophages par des signaux de lactobacilles (Mack et al., 1999; Miettinen et al., 2000), la stimulation des sIgA et des neutrophiles sur le site de l'action probiotique (par exemple l'intestin) et l'absence de production de cytokines inflammatoires ou de stimulation d'immunoglobulines périphériques élevées (Kaila et al., 1992; Gardiner et al., 2001). On reconnaît également que dans certaines situations, la stimulation de facteurs tels que les cytokines inflammatoires peut avoir des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte.

Les études futures devraient être centrées sur les effets sur l'homme, et élucider les mécanismes d'action au sein des systèmes qui simulent la situation *in vivo*, et rattacher ceci à la génomique bactérienne et humaine.

5.3.3 Allergie

Dans un essai randomisé et contrôlé à double insu contre placebo, on a administré *L. rhamnosus* GG à des femmes enceintes pendant quatre semaines avant l'accouchement, puis à des nourrissons à haut risque d'allergie pendant six mois, ce qui a entraîné une réduction importante de la maladie atopique précoce (Kalliomaki et al., 2001). Cette étude illustre le potentiel des microorganismes probiotiques de moduler la réponse immunitaire et d'empêcher l'apparition d'allergies. Dans d'autres études cliniques sur des nourrissons allergiques au lait de vache, la dermatite atopique a été soulagée grâce à l'ingestion de souches probiotiques de *L. rhamnosus* GG et de *B. lactis* BB-12 (Majamaa et Isolauri, 1996; 1997; Isolauri et al., 2000). Les mécanismes précis n'ont pas été élucidés, mais l'on s'appuie sur la capacité des lactobacilles de neutraliser l'augmentation de la perméabilité intestinale, de renforcer les réponses des IgA spécifiques de l'intestin, d'encourager la fonction de barrière des intestins par le rétablissement de microbes normaux, et de renforcer la transformation du facteur de croissance bêta et la production d'interleukine 10 ainsi que des cytokines qui favorisent la production d'anticorps IgE (Kalliomaki et al., 2001; Isolauri, 2001). Il reste encore à déterminer si le lymphocyte T1 auxiliaire est renforcé et/ou si la domination du lymphocyte T2 auxiliaire est réduite. Certains microorganismes peuvent contribuer à amener des réponses immunitaires de lymphocytes T auxiliaires, indiquant que l'utilisation de microorganismes probiotiques pourrait orienter la mémoire immunologique polarisée vers un autre sujet sain (McCracken and Lorenz, 2001).

5.3.4 Maladies cardiovasculaires

Il a déjà été démontré que l'emploi de lactobacilles probiotiques et des sous-produits du métabolisme a des effets bénéfiques sur le coeur, y compris pour la prévention et la thérapie de diverses cardiopathies ischémiques (Oxman et al., 2001) et abaisse le cholestérol sérique (De Roos et Katan, 2000). Bien que la Consultation estime que ces résultats sont importants, il est nécessaire de poursuivre les travaux de recherche et particulièrement les études sur l'homme avant de pouvoir affirmer que les probiotiques exercent des effets bénéfiques sur l'appareil cardiovasculaire.

5.3.5 Troubles de l'appareil génito-urinaire

A l'exception des maladies sexuellement transmissibles, la quasi-totalité des infections du vagin et de la vessie sont dus à des microorganismes qui proviennent de l'intestin. Il y a une forte corrélation entre la présence de commensaux, particulièrement de lactobacilles dans le vagin, et la santé, et une absence de ces microorganismes chez les patients souffrant d'infections génito-urinaires. Le bouleversement de la flore vaginale normale est dû à des antibiotiques à large spectre, à des spermicides, à des hormones, à des substances alimentaires et à des facteurs non encore complètement compris. Quelques éléments prouvent que les microorganismes probiotiques ingérés comme aliments et les préparations topiques ont un rôle dans la prévention des troubles de l'appareil génito-urinaire. Des critères ont été proposés pour la sélection de souches probiotiques efficaces (Reid et Bruce, 2001); ils devraient comprendre la vérification de la sécurité, l'aptitude à la colonisation dans le vagin et la capacité de réduire le nombre des agents pathogènes moyennant l'exclusion compétitive de l'adhérence et l'inhibition de la croissance des agents pathogènes.

5.3.5.1 Vaginose bactérienne

La vaginose bactérienne est une maladie d'étiologie inconnue attribuable au développement excessif de diverses espèces de bactéries anaérobies et associée à la disparition des lactobacilles qui dominent normalement dans le vagin. De nombreuses femmes souffrant de vaginose bactérienne sont asymptomatiques mais risquent de plus graves complications telles que l'endométriose, les infections pelviennes et les complications de l'accouchement, y compris de l'accouchement prématuré. Certaines preuves cliniques laissent à penser que l'administration par voie orale ou vaginale de lactobacilles peut éradiquer la vaginose bactérienne asymptomatique (Reid et al., 2001a; 2001b) et symptomatique (Hilton et al., 1995; Sieber et Dietz, 1998). On a eu recours à l'administration orale de *Lactobacillus acidophilus* et de yogourt dans la prévention et la thérapie de la candidose vaginale, bien qu'aucune donnée sur son efficacité n'ait encore été fournie (Hilton et al., 1992). On a supposé que les lactobacilles devraient produire du peroxyde d'hydrogène, mais étant donné que ces microorganismes sont plus sujets à être tués par les spermicides, l'association de deux souches ou plus, dont une produisant du peroxyde d'hydrogène et l'autre résistant aux spermicides, pourrait être plus thérapeutique.

5.3.5.2 Candidose vaginale

La candidose vaginale est une maladie très commune, souvent accélérée par l'utilisation d'antibiotiques, l'exposition à des spermicides ou à des changements hormonaux non encore complètement

élucidés. Contrairement à la vaginose bactérienne et aux infections urinaires, la candidose vaginale n'est pas nécessairement due à la perte de lactobacilles. Peu de souches de *Lactobacillus* sont capables d'inhiber la croissance et l'adhérence de *Candida albicans* ou d'autres espèces de *Candida,* et il n'y a pas de preuves solides indiquant que l'administration par voie vaginale de lactobacilles puisse éradiquer l'infection par les levures. Toutefois, il y a lieu de croire que l'ingestion de lactobacilles et l'emploi vaginal peuvent réduire le risque de rechutes (Hilton et al., 1992; 1995) et de nouvelles études sont justifiées compte tenu du fait que cette maladie est très répandue et débilitante.

5.3.5.3 Infections urinaires

Plusieurs centaines de millions de femmes sont touchées chaque année par des infections urinaires. L'uropathogène *Escherichia coli* qui se développe dans l'intestin est responsable jusqu'à 85% des cas. La bactérurie asymptomatique est également commune chez la femme et est parfois suivie d'infections urinaires symptomatiques. Il y a des preuves, y compris des données randomisées et contrôlées, qui indiquent que des gélules vaginales de souches de *Lactobacillus* GR-1 et B-54 lyophilisées appliquées une fois par semaine (Reid et al., 1995) préparées avec adjonction de lait écrémé et l'ingestion une fois par jour par voie orale d'une capsule de souches de *Lactobacillus* GR-1 et RC-14 (Reid et al., 2001b), peuvent restaurer une flore vaginale dominée par les lactobacilles et réduire le risque de réapparition des infections urinaires. En créant dans le vagin une barrière de lactobacilles, on estime que moins d'agents pathogènes arriveront dans la vessie, bloquant ainsi le processus infectieux.

5.3.6 Utilisation des probiotiques chez des sujets par ailleurs sains

De nombreux produits probiotiques sont utilisés par les consommateurs qui par ailleurs se considèrent en bonne santé. Ils le font en supposant que les probiotiques peuvent maintenir leur santé et leur bien-être et réduire les risques à long terme de maladies des intestins, des reins, des voies respiratoires et du coeur. Il y a lieu de faire plusieurs remarques sur cette hypothèse et ses implications. La Consultation a reconnu que l'emploi des probiotiques ne saurait remplacer des habitudes saines de vie quotidienne et une alimentation équilibrée chez des sujets par ailleurs sains.

Premièrement, il n'y a pas de mesure précise de ce qu'est la "santé" et les sujets pourraient en fait avoir des maladies latentes et indétectables à un moment donné. Deuxièmement, aucune étude n'a encore été entreprise qui analyse si l'ingestion régulière d'un probiotique contribue ou non à maintenir en bonne santé durant toute la vie, indépendamment des mesures concernant l'alimentation, l'exercice ou d'autres modes de vie. Une étude des centres de jour en Finlande a montré que l'utilisation de probiotiques a réduit la fréquence des infections respiratoires et des jours d'absence pour maladie (Hatakka et al., 2001). La Consultation préconise des études qui rendraient crédible l'idée que les probiotiques doivent être ingérés régulièrement par les hommes, femmes et enfants sains. Ces études devraient être multicentriques et nécessitent une randomisation selon l'âge, le sexe, la race, l'apport nutritionnel, l'éducation, les conditions socio-économiques et d'autres paramètres.

L'impact de la prise régulière de probiotiques sur la flore intestinale n'a pas encore été élucidé. Par exemple, conduit-elle à la diminution ou à la perte de microorganismes commensaux qui par ailleurs ont des

effets bénéfiques sur l'hôte? Bien qu'il n'y ait pas d'indication quant à ces effets, la question doit être examinée. En outre, le concept de rétablissement d'un équilibre normal suppose que l'on sache ce que comporte la situation normale dans n'importe quel tractus intestinal. La Consultation a jugé important de poursuivre l'étude des diverses contributions des microorganismes des intestins sur la santé et les maladies. Il y a lieu également de noter que, jusqu'ici, l'ingestion de souches probiotiques n'a pas conduit à une colonisation à long terme mesurable ni à la survie de l'hôte. Invariablement, les microorganismes sont retenus pendant des jours ou des semaines, mais pas plus longtemps (Tannock et al., 2000). Ainsi, l'utilisation des probiotiques produit probablement plus d'effets transitoires que d'effets à long terme, c'est pourquoi une ingestion continue s'impose.

Chez le nouveau-né, là où la flore commensale n'a pas encore été établie, il est possible que des microorganismes probiotiques deviennent des colonisateurs primaires qui subsistent pendant longtenps, peut-être même pendant toute la vie. Alors que l'utilisation de probiotiques peut empêcher la mort et une morbidité grave chez les nouveaux-nés présentant une insuffisance pondérale à la naissance (Hoyos, 1997), l'altération de la flore chez les bébés sains est une situation plus complexe. A ce propos, une implication du Projet du génome humain est que les probiotiques choisis doivent être utilisés à la naissance pour créer une flore qui améliore la santé durant toute la vie. Ces questions sont très importantes pour l'avenir et nécessiteront un ample débat comprenant des considérations morales.

6. Méthodes d'essai visant à établir les effets bénéfiques des microorganismes probiotiques sur la santé

Avant d'entreprendre des essais *in vivo*, il faudrait conduire des études *in vitro* efficaces pour déterminer les effets bénéfiques potentiels des probiotiques sur la santé. Des essais, par exemple sur la tolérance à l'acidité et à la bile, la production antimicrobienne et la capacité d'adhérence aux cellules intestinales humaines devraient être effectués en fonction des effets bénéfiques sur la santé (Collins et al., 1998; Havenaar et Huis in't Veld, 1992).

Afin d'établir qu'un probiotique donné peut prévenir ou guérir une infection pathogène spécifique, une étude clinique doit être menée pour vérifier l'exposition audit agent pathogène (étude préventive) ou si le microorganisme infectieux est cet agent pathogène spécifique (étude de traitement). Si l'objectif consiste à appliquer des probiotiques en général pour prévenir ou guérir un certain nombre de gastro-entérites infectieuses ou de troubles génito-urinaires, la conception de l'étude doit définir le cadre clinique, les symptômes et les signes d'infection et comprendre des contrôles appropriés.

Pour les essais *in vivo*, il faudrait procéder à des essais cliniques randomisés et contrôlés à double insu contre placebo pour établir l'efficacité du produit probiotique. La Consultation a reconnu qu'il est nécessaire d'entreprendre des études sur l'homme auxquelles participeraient un nombre suffisant de sujets pour qu'elles soient significatives sur le plan statistique (Andersson et al., 2001). Il serait préférable que ces conclusions soient corroborées par plus d'un centre indépendant. Pour certains aliments, il pourrait être difficile de faire la distinction entre un effet probiotique et un effet lié aux caractéristiques générales de l'aliment. Par conséquent, il est essentiel que des contrôles bien faits soient inclus dans ces essais sur l'homme. En outre, les données

obtenues avec un aliment probiotique spécifique ne peuvent être extrapolées à d'autres aliments concernant cette souche particulière ni à d'autres microorganismes probiotiques.

En ce qui concerne la mesure des effets positifs sur la santé dans les recherches effectuées sur l'homme, il faudrait examiner les conclusions cliniques significatives dans la population étudiée. Pour les études sur la diarrhée, cela pourrait être la prévention des décès dans certains pays, alors que dans d'autres cela pourrait être la prévention d'une perte de poids définie, significative sur le plan statistique, la diminution de la durée des selles aqueuses/liquides, et un retour plus rapide à un bon état de santé, comme l'indiquent le rétablissement du fonctionnement normal de l'intestin et la consistance des selles.

Bien que l'on sache que certains probiotiques peuvent entraîner des effets bénéfiques (voir la section 5), on sait peu de choses sur les mécanismes moléculaires de ces effets (Andersson et al., 2001). Les mécanismes peuvent varier d'un probiotique à l'autre (pour le même effet par différents moyens); la question est rendue complexe par le fait qu'il peut s'agir d'une combinaison de mécanismes. Cela pourrait comprendre la production d'un ou de plusieurs enzymes ou métabolites spécifiques qui agissent directement sur le(les) microorganisme(s), ou le probiotique pourrait aussi pousser le corps à produire l'action bénéfique.

Des exemples de mécanismes d'action probiotiques possibles pour la lutte contre les agents pathogènes intestinaux comprennent:

- production de substances antimicrobiennes
- exclusion compétitive de la liaison des agents pathogènes
- concurrence pour les nutriments
- modulation du système immunitaire

La Consultation propose que des expériences claires (*in vitro* et/ou *in vivo*) soient conçues au niveau moléculaire afin d'élucider les mécanismes des effets bénéfiques des probiotiques. Des expériences appropriées devraient être effectuées, en particulier l'analyse génétique pour élucider le mécanisme des actions.

On peut ajouter des bactéries probiotiques contenant β-galactosidase à des aliments pour faciliter la digestion du lactose (Kim et Gilliland, 1983). Toutefois, on a observé un effet semblable sur la santé avec les bactéries déclenchant la fermentation du lactose telles que *L. delbrueckii.* ssp. *bulgaricus* et *S. thermophilus* dans les produits laitiers fermentés tels que le yogourt (Kim et Gilliland, 1984; Kolars et al., 1984). Ces levains traditionnels ne sont pas considérés comme des probiotiques étant donné qu'ils n'ont pas la capacité de se développer dans l'intestin (Klein et al., 1998).

7. Aspects relatifs à la sécurité sanitaire

7.1 Profils de résistance des probiotiques aux antimicrobiens

Comme avec toutes les bactéries, on a noté une résistance aux antibiotiques parmi certaines bactéries lactiques, y compris des microorganismes probiotiques (Salminen et al., 1998). Cette résistance peut être liée

aux gènes locaux chromosomiques, aux transposons ou aux gènes codés par des plasmides. Toutefois, les informations disponibles sont insuffisantes sur les situations dans lesquelles ces éléments génétiques pourraient être mobilisés et l'on ignore si dans certains cas cela pourrait devenir un problème clinique.

L'on s'inquiète de l'utilisation dans les aliments de bactéries probiotiques qui contiennent des gènes spécifiques résistants aux médicaments. Les bactéries, qui contiennent des gènes transmissibles résistants aux médicaments, ne devraient pas être utilisées dans les aliments. Actuellement, aucune méthode phénotypique normalisée n'est disponible qui soit reconnue internationalement pour des lactobacilles et des bifidobactéries (non pathogènes). La Consultation reconnaît qu'il est nécessaire de mettre au point des bioanalyses normalisées pour déterminer les profils d'insensibilité ou de résistance aux médicaments des lactobacilles et des bifidobactéries.

La Consultation est consciente que des plasmides existent dans les lactobacilles et les bifidobactéries, en particulier dans des souches isolées provenant de l'intestin, qui ont des gènes codant la résistance aux antibiotiques. Etant donné l'importance du problème, on suggère que de nouvelles recherches soient faites sur la résistance aux antibiotiques des lactobacilles et des bifidobactéries.

Lorsqu''il s'agit de sélectionner des souches probiotiques, il est recommandé que les bactéries probiotiques n'hébergent pas des gènes transmissibles codant une résistance aux médicaments utilisés à des fins cliniques. Des recherches sont nécessaires concernant la résistance aux antibiotiques des lactobacilles et des bifobactéries et le potentiel pour la transmission d'éléments génétiques à d'autres microorganismes intestinaux et/ou d'origine alimentaire.

7.2 Sécurité sanitaire des probiotiques chez l'homme

Concernant la sécurité des probiotiques, la Consultation estime qu'une série de principes généraux et de critères pratiques doit être établie pour élaborer des directives sur la manière de tester des microorganismes probiotiques potentiels donnés, et d'en prouver l'efficacité, afin de réduire le risque qu'ils provoquent ou soient associés à l'étiologie de la maladie, au lieu d'exercer un effet bénéfique sur la santé lorsqu'ils sont administrés à l'homme. Ces directives devraient reconnaître que certaines espèces peuvent nécessiter une évaluation plus rigoureuse que d'autres. Sous cet angle, l'évaluation de la sécurité exigera au moins quelques études à effectuer chez l'homme, et devrait aborder des aspects de l'utilisation finale proposée de la souche probiotique.

D'après les informations disponibles, les lactobacilles sont utilisés depuis longtemps comme probiotiques sans risque établi pour l'homme, et cela reste la meilleure preuve de leur sécurité sanitaire (Naidu et al., 1999; Saxelin et al., 1996). Par ailleurs, aucune propriété pathogène ou de virulence n'a été trouvée chez les lactobacilles, les bifidobactéries ou les lactocoques (Aguirre et Collins, 1993). Ceci étant établi, la Consultation reconnaît que dans certaines conditions, certaines souches de lactobacilles ont été associées à des effets négatifs, par exemple à de rares cas de bactériémie (Saxelin et al., 1996). Toutefois, selon une récente étude épidémiologique de rapports sur des cas de bactériémie par lactobacilles systématiquement collectés dans un pays, l'incidence ou la fréquence de la bactériémie n'augmentent pas avec l'utilisation accrue de lactobacilles probiotiques (Salminen et al., 2001).

On reconnaît également que certains membres de bactéries lactiques, tels que les entérocoques peuvent posséder des caractéristiques de virulence. Pour cela et pour d'autres raisons encore, la Consultation recommande que *Enterococcus* ne soit pas mentionné comme probiotique destiné à la consommation humaine. Ceci est justifié par le fait que:

A. Des souches peuvent afficher un niveau de résistance élevé à la vancomycine (Shlaes et al., 1989; Eaton et Gasson, 2001; Lund et Edlund, 2001), ou peuvent acquérir cette résistance. Si cette résistance est présente, le transfert à d'autres microorganismes peut se produire et cela pourrait renforcer la pathogénèse de ces récepteurs (Noble et al., 1992; Leclercq et Courvalin, 1997).

B. Certaines souches d'entérocoques résistantes à la vancomycine sont communément associées à des infections nosocomiales dans les hôpitaux (Leclercq et Courvalin, 1997; Woodford et al., 1995).

La Consultation reconnaît que certaines souches d'*Enterococcus* possèdent des propriétés biotiques et pourraient au point d'inclusion dans un produit ne pas présenter une résistance à la vancomycine. Toutefois, c'est au producteur qu'il appartient de démontrer que n'importe quelle souche donnée ne peut acquérir ou transférer la résistance à la vancomycine ou être virulente et causer une infection.

8. Spécifications d'un produit probiotique, assurance de qualité et questions de réglementation

8.1 Questions de réglementation

Les réglementations gouvernementales diffèrent d'un pays à l'autre, toutefois le statut des probiotiques en tant que composante d'un aliment n'est pas établi actuellement à l'échelon international. En général, les probiotiques entrent dans la catégorie des compléments alimentaires et nutritionnels du fait que, le plus souvent, ils sont ingérés par voie orale comme des aliments. Ils se différencient des médicaments de plusieurs façons, en particulier pour ce qui est des allégations. Les médicaments peuvent prétendre être efficaces dans le traitement ou l'atténuation des maladies, tandis que les aliments, les additifs alimentaires et les compléments alimentaires ne peuvent faire que des allégations générales relatives à la santé.

Afin de comprendre où les produits probiotiques se situent actuellement en termes d'organismes de réglementation, et les allégations qui peuvent être faites concernant leur emploi, on donne l'exemple des Etats-Unis ci-après (www.fda.gov). Les consommateurs ont accès à des produits ingérés sous forme de pilules, de gélules, de comprimés et de liquides, ou dans des gélules vendues dans les magasins de diététique ou par le biais de l'internet.

- On définit une "allégation santé" comme suit: "une déclaration qui caractérise le rapport de toute substance avec une maladie ou un état de santé, et qui devrait être fondée sur une connaissance bien établie et généralement acceptée de la preuve dans la littérature scientifique et/ou des recommandations formulées par des services de santé publique nationaux et internationaux. Exemple: "protège contre le cancer'.

- On définit une allégation relative à la structure ou au fonctionnement comme suit: “une déclaration de soutien nutritionnel qui décrit le rôle d’un nutriment ou d’un ingrédient alimentaire pour affecter la structure ou le fonctionnement du corps humain, ou qui caractérise le mécanisme documenté par lequel un nutriment ou un ingrédient alimentaire agissent pour maintenir cette structure ou ce fonctionnement. Exemple: “soutient le système immunitaire”. Des allégations selon lesquelles des substances peuvent traiter, diagnostiquer, guérir ou prévenir une maladie ne sont pas des allégations relatives à la structure ou au fonctionnement.

La Consultation recommande que les allégations relatives à la réduction des maladies soient autorisées pour certains probiotiques s’il a été démontré que ceux-ci sont conformes aux directives contenues dans le présent rapport.

Le nouveau paradigme de l’analyse des risques joue un rôle de plus en plus important dans la sécurité sanitaire des aliments sur le plan de la réglementation et est centré sur une séparation fonctionnelle de l’évaluation des risques fondée sur la science et la gestion des risques. Toutefois, la question de la communication est maintenant aussi considérée comme un volet important de l’analyse des risques. La communication comprend des échanges entre évaluateurs et gestionnaires et une interaction bidirectionnelle avec d’autres parties intéressées. Dans ce concept, la transparence du processus décisionnel concernant des mesures relatives à la sécurité sanitaire des aliments est soulignée, ainsi que l’importance de donner aux consommateurs et à d’autres les moyens de participer au processus de développement. Par conséquent, des actions pour la communication relatives à l’emploi des probiotiques devraient être considérées comme partie intégrante de la prise d’initiatives concernant la réglementation.

8.2 Etiquetage approprié

Pour clarifier l’identité d’un probiotique présent dans l’aliment, la Consultation recommande que l’espèce microbienne soit indiquée sur l’étiquette. Si une sélection a été effectuée au niveau de la souche, l’identité de cette dernière devrait aussi être incluse, étant donné que l’effet probiotique semble être propre à la souche.

Il est indispensable d’énumérer avec soin les bactéries probiotiques présentes dans les produits alimentaires afin de les inclure sur l’étiquette. L’étiquette devrait indiquer la concentration viable de chaque probiotique présent à la fin de la durée de conservation (Reid et al., 2001c).

8.3 Procédés de fabrication et de manipulation

Afin de garantir que toute culture donnée conserve les propriétés bénéfiques, la culture souche devra être conservée dans des conditions appropriées et il faudra contrôler périodiquement l’identité de la souche et les propriétés du probiotique. En outre, la viabilité et l’activité probiotique doivent être maintenues pendant toutes les opérations de transformation, de manipulation et de stockage du produit alimentaire contenant le probiotique et être vérifiées à la fin de la durée de conservation du produit.

Des programmes d'assurance de qualité adéquats devraient être en place. Il faudrait suivre les pratiques de bonne fabrication durant la production d'aliments probiotiques. La Consultation recommande que les Principes généraux d'hygiène alimentaire du Codex et les Directives pour l'application du système HACCP (CAC, 1997) soient appliqués.

8.3.1. Produits laitiers en poudre

Etant donné que l'un des objectifs de la Consultation était d'étudier les propriétés sanitaires et nutritionnelles du lait en poudre contenant des bactéries lactiques vivantes, on a jugé nécessaire d'approfondir la question dans le présent rapport. Les méthodes de production de poudres probiotiques séchées devraient être telles qu'un nombre suffisant de bactéries probiotiques viables soit maintenu dans la poudre séchée après fabrication, de même que le maintien ou la stabilité des propriétés probiotiques devraient être assurés durant toute la durée de conservation.

La Consultation a reconnu qu'il n'y a pas d'informations adéquates disponibles sur la stabilité des probiotiques dans le lait en poudre et que les informations sont insuffisantes en ce qui concerne la question de la qualité des probiotiques après la dessiccation par atomisation. Durant cette opération, les cellules subissent des dommages et il y a une perte de viabilité de la culture probiotique (Daemen et van der Stege, 1982; Gardiner et al., 2000). Aussi est-il nécessaire d'améliorer ces méthodes de dessiccation afin d'assurer une meilleure survie, y compris en utilisant des agents protecteurs qui favorisent la survie des lactobacilles (Prajapati et al., 1986; Selmer-Olsen et al., 1999) et l'adaptation à l'environnement (Desmond et al., 2001). La stabilité des probiotiques durant le stockage de la poudre est inversement liée à la température de stockage (Gardiner et al., 2000) et il faut trouver des méthodes pour résoudre cette question. Bien que la littérature ne le mentionne pas, certaines sociétés produisant des cultures de ferments disposent de la technologie pour produire des bactéries lactiques lyophilisées, y compris des probiotiques qui sont "stabilisés" et gardent ainsi un niveau élevé de viabilité durant la dessiccation et le stockage. L'incorporation de ces cultures séchées dans le lait en poudre pourrait être la méthode de choix pour préparer des produits laitiers en poudre contenant des probiotiques. Toutefois, il faut poursuivre les travaux de recherche, notamment les tests sur le stockage afin de confirmer la faisabilité de cette opération.

On veillera tout particulièrement à ce que des facteurs comme ceux mentionnés ci-après soient pris en compte, pour ce qui concerne la viabilité du probiotique:

- Méthode de dessiccation
- Type d'emballage
- Dimension de l'emballage
- Conditions de stockage (température, humidité, etc.)
- Qualité du lait en poudre (normalisée)
- Procédé de réhydratation
- Manipulation du produit réhydraté.

8.4 Prébiotiques

Les prébiotiques constituent un domaine distinct des probiotiques et ne sont donc pas examinés en détail dans le présent rapport. La Consultation reconnaît à la fois les effets bénéfiques potentiels des prébiotiques par rapport aux probiotiques, outre leur aptitude à stimuler les bactéries indigènes bénéfiques chez l'hôte.

Les prébiotiques sont généralement définis comme des "ingrédients alimentaires non digestibles qui exercent un effet bénéfique sur l'hôte en stimulant de façon sélective la croissance et/ou l'activité d'une ou de plusieurs espèces bactériennes déjà établies dans le colon, et ainsi améliorent la santé de l'hôte" (Gibson et Roberfroid, 1995).

Les prébiotiques ont essentiellement le même objectif que les probiotiques, c'est-à-dire améliorer la santé de l'hôte moyennant la modulation de la flore intestinale, bien qu'à l'aide d'un mécanisme différent. Toutefois, il y a des cas où les prébiotiques peuvent être bénéfiques pour les probiotiques, en particulier concernant les bifidobactéries, ce qui nous amène au concept de symbiotique. Les symbiotiques sont définis comme des "mélanges de probiotiques et de prébiotiques qui ont des effets bénéfiques chez l'hôte en améliorant la survie et l'implantation de compléments alimentaires microbiens vivants dans le tractus gastro-intestinal de l'hôte" (Andersson et al., 2001). Si une relation symbiotique est prévue, il faut le vérifier scientifiquement selon les directives données à la section 5 du présent rapport.

9. Surveillance après la mise sur le marché

La Consultation recommande que les producteurs de probiotiques, les professionnels de la santé et les agents de la santé publique étudient un système pour surveiller les effets sur la santé de l'administration de probiotiques à long terme. Cela pourrait être un moyen d'avoir un aperçu des effets secondaires potentiels et d'évaluer les effets bénéfiques à long terme. La surveillance passe nécessairement par un bon système de retraçage.

10. Conclusions

1. Les experts ont reconnu qu'il existe des preuves scientifiques suffisantes indiquant que la consommation d'aliments contenant des probiotiques peut avoir des effets bénéfiques sur la santé. Toutefois, on a estimé que des données de recherche supplémentaires sont nécessaires pour confirmer un certain nombre de ces effets bénéfiques sur la santé en appliquant une approche systématique et en suivant les directives pour l'évaluation des probiotiques proposées dans le présent rapport.

2. Il y a tout lieu de croire que certaines souches de probiotiques sont propres à la consommation humaine et capables d'exercer des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte, mais ces effets ne peuvent être extrapolés à d'autres souches sans des expériences.

3. Les effets bénéfiques sur la santé pour lesquels les probiotiques peuvent être appliqués comprennent les infections gastro-intestinales, certains troubles intestinaux, l'allergie et les infections génito-urinaires, dont souffre une grande partie de la population mondiale. L'application de probiotiques pour prévenir et guérir ces troubles devrait être examinée plus largement par la communauté médicale.

4. En outre, des preuves se font jour indiquant que les probiotiques peuvent être ingérés par des personnes saines comme moyen de prévenir certaines maladies et de moduler l'immunité de l'hôte.

5. Le mode d'emploi des probiotiques en tant que composantes d'un aliment n'est pas homologué actuellement à l'échelon international. Dans quelques pays seulement, des mesures réglementaires sont en place ou suffisamment développées qui permettent de décrire les produits probiotiques comme étant bénéfiques pour la santé.

11. Recommandations

1. Les souches probiotiques potentielles doivent être identifiées par des méthodes comprenant des techniques moléculaires internationalement acceptées et nommées selon le Code international de nomenclature, et les souches devraient être de préférence déposées dans une collection de cultures fiable reconnue internationalement.

2. Pour être appelé probiotique, le microorganisme probiotique doit être capable d'exercer des effets bénéfiques précis sur la santé de l'hôte, comme il est souligné à la section 5 du présent rapport, dans le véhicule effectif du produit qui sera mis à la disposition de l'homme.

3. Il est nécessaire de perfectionner les tests *in vitro* et *in vivo* afin de mieux prévoir l'aptitude des microorganismes à fonctionner chez l'homme.

4. Il faudrait disposer de données plus significatives sur le plan statistique concernant l'efficacité chez l'homme.

5. De bonnes pratiques de fabrication doivent être appliquées avec une assurance de qualité, les conditions de durée de conservation doivent être établies, et l'étiquetage doit être clair afin d'inclure une dose minimale et des allégations santé vérifiables.

6. La situation réglementaire des probiotiques en tant que composante d'un aliment doit être établie à un niveau international.

7. La Consultation recommande qu'un cadre réglementaire soit mis en place afin de mieux traiter les questions liées aux probiotiques, y compris l'efficacité, la sécurité, l'étiquetage, les fraudes et les allégations.

8. Les produits probiotiques qui s'avèrent exercer des effets bénéfiques établis sur la santé de l'hôte devraient pouvoir décrire ces effets bénéfiques spécifiques.

9. Des systèmes de surveillance, y compris le retraçage et la surveillance après la mise sur le marché, devraient être mis en place afin d'enregistrer et d'analyser tout fait négatif associé aux probiotiques dans les aliments. Ces systèmes pourraient aussi être utilisés pour surveiller les effets bénéfiques à long terme des souches probiotiques.

10. Des efforts devraient être entrepris pour rendre les probiotiques plus largement disponibles, en particulier pour les travailleurs de l'humanitaire et les populations à haut risque de morbidité et de mortalité.

11. Il est nécessaire de poursuivre les travaux concernant les critères et les méthodologies pour les probiotiques.

12. Sigles et acronymes

ADN: Acide désoxyribonucléique

ARN: Acide ribonucléique

CAC: Commission du Codex Alimentarius

FAO: Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

HACCP: Analyse des risques – Points critiques pour leur maîtrise

IgE: Immunoglobuline E

OMS: Organisation mondiale de la santé

RDP: Projet de base de données sur les ribosomes

sIgA: immunoglobine de surface A

SRO: Sels pour réhydratation orale

13. Références

1. Aiba Y, Suzuki N, Kabir AMA, Takagi A, Koga Y (1998*): Lactic acid-mediated suppression of Helicobacter pylori by the oral administration of Lactobacillus salivarius as a probiotic in a gnotobiotic murine model*. Am J Gastroenterol, 93: 2097-2101
2. Aguirre M, Collins, MD (1993): *Lactic acid bacteria and human clinical infection*. J Appl Bacteriol, 75: 95-107
3. Andersson H, Asp N-G, Bruce A, Roos S, Wadstrom T, Wold AE (2001*): Health effects of probiotics and prebiotics: A literature review on human studies*. Scand J Nutr, 45: 58-75
4. Armuzzi A, Cremonini F, Bartolozzi F, Canducci F, Candelli M, Ojetti V, Cammarota G, Anti M, De Lorenzo A, Pola P, Gasbarrini G, Gasbarrini A (2001): *The effect of oral administration of Lactobacillus GG on antibiotic-associated gastrointestinal side-effects during Helicobacter pylori eradication therapy.* Aliment Pharmacol Ther, 15(2): 163-169
5. Arunachalam K, Gill HS, Chandra RK (2000): *Enhancement of natural immunity function by dietary consumption of Bifidobacterium lactis HN019*. European J Clin Nutr, 54: 1-4.
6. Arvola T, Laiho K, Torkkeli S, Mykkänen H, Salminen S, Maunula L, Isolauri E (1999): *Prophylactic* Lactobacillus *GG reduces antibiotic-associated diarrhea in children with respiratory infections: a randomized study*. Pediatrics, 104(5): 1-4.
7. Aso Y, Akaza H, Kotake T, Tsukamoto T, Imai K, Naito S (1995): *Preventive effect of a Lactobacillus casei preparation on the recurrence of superficial bladder cancer in a double-blind trial.* The BLP Study Group Eur Urol, 27: 104-9.
8. Bennet R, Eriksson M, Nord CE, Zetterstrom R (1986*): Fecal bacterial microflora of new-born infants during intensive care management and treatment with five antibiotic regimens*. Pediatr Infect Dis, 5: 533-9.
9. Bernet-Camarad MF, Lievin V, Brassart D, Neeser JR, Servin AL, Hudault S (1997): *The human Lactobacillus acidophilus strain La-1 secrets a non bacteriocin antibacterial substances active* in vivo *and* in vitro. Appl Environ Microbiol, 63: 2747-2753.
10. Biller JA, Katz AJ, Flores AF, Buie TM, Gorbach SL (1995*): Treatment of recurrent Clostridium difficile colitis with Lactobacillus GG*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 21: 224-6.
11. CAC (1997): *General Requirements (Food Hygiene).* Supplement to Vol. 1. B. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Rome.
12. Canducci F, Armuzzi A, Cremonini F, Cammarota G, Bartolozzi F, Pola P, Gasbarrini G, Gasbarrini A, (2000): *A lyophilized and inactivated culture of Lactobacillus acidophilus increases Helicobacter pylori eradication rates*. Aliment Pharmacol Ther, 14: 1625-9.
13. Coconnier MH, Bernet MF, Kerneis S, Chauviere G, Fourniat J, Servin AL (1993): *Inhibition of adhesion of enteroinvasive pathogens to human intestinal Caco-2 cells by Lactobacillus acidophilus strain LB decreases bacterial invasion.* FEMS Microbiol Lett, 110: 299-306.

14. Coconnier MH, Lievin V, Bernet-Camard MF, Hudault S, Servin AL (1997): *Antibacterial effect of the adhering human Lactobacillus acidophilus strain LB.* Antimicrob Agents Chemother, 41: 1046-52.
15. Coconnier MH, Liévin V, Hemery E, Servin AL (1998): *Antagonistic activity against Helicobacter infection in vitro and in vivo by the human Lactobacillus acidophilus strain LB.* Appl Environ Microbiol, 64 : 4573-4580.
16. Collins JK, Thornton G, O'Sullivan GO (1998): *Selection of probiotic strains for human applications.* Int Dairy J, 8: 487-490.
17. Daemen ALH, van der Stege HJ (1982): *The destruction of enzymes and bacteria during spray drying of milk and whey. 2. The effect of the drying process.* Neth Milk and Dairy J, 36: 211-229.
18. De Roos NM, Katan MB (2000) : *Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: A review of papers published between 1988 and 1998.* Am J Clin Nutr, 71: 405-411.
19. Desmond C, Stanton C, Fitzgerald G, Collins K, Ross, RP (2001): *Environmental adaptation of probiotic lactobacilli towards improvement of performance during spray drying.* Int Dairy J, (in press).
20. Donnet-Hughes A, Rochat F, Serrant P, Aeschlimann JM, Schiffrin EJ (1999): *Modulation of nonspecific mechanisms of defense by lactic acid bacteria: Effective dose.* J Dairy Sci, 82: 863-9.
21. Eaton TJ, Gasson MJ (2001): *Molecular screening of Enterococcus virulence determinant potential for genetic exchange between food and medical isolates.* Appl Environ Microbiol, 67: 1628-1635.
22. El-Nezami H, Mykkänen H, Kankaanpää P, Salminen S, Ahokas J (2000): *Ability of Lactobacillus and Probionibacterium strains to remove aflatoxin* B_1 *from chicken duodenum.* J Food Protect, 63: 549-552.
23. Felley C-P, Corthesy-Theulaz I, Rivero JL, Sipponene P, Kaufmann BP, Wiesel PH, Brassart D, Pfeifer A, Blum AL, Michetti P (2001): *Favourable effect of acidified milk (LC-1) on Helicobacter gastritis in man.* Eur J Gastroenterol Hepatol, 13(1): 25-9.
24. Fuller R (1989): *Probiotics in man and animals*. J Appl Bacteriol 66: 365–378.
25. Gardiner G, O'Sullivan E, Kelly J, Auty MAE, Fitzgerald GF, Collins JK, Ross RP, Stanton C (2000): *Comparative survival rates of human-derived probiotic Lactobacillus paracasei and L. salvarius strains during heat treatment and spray drying*. Appl Environ Microbiol 66: 2605-2616.
26. Gardiner G, Heinemann C, Madrenas J, Bruce AW, Beuerman D, Baroja L, Reid G (2001): *Oral administration of the probiotic combination Lactobacillus rhamnosus GR-1 and L. fermentum RC-14 for human intestinal applications*. Int Dairy J (in press).
27. Gibson GR, Roberfroid MB (1995): *Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics.* J Nutr, 125: 1401-1412.
28. Gill HS, Rutherfurd KJ, Prasad J, Gopal PK (2000): *Enhancement of natural and acquired immunity by Lactobacillus rhamnosus (HN001), Lactobacillus acidophilus (HN017) and Bifidobacterium lactis (HN019).* Br J Nutr, 83: 167-176.
29. Gill HS, Cross ML, Rutherfurd KJ, Gopal PK (2001): *Dietary probiotic supplementation to enhance cellular immunity in the elderly.* Br J Biomed Sci, 57(2): 94-96.

30. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Brigidi P, Matteuzzi D, Bazzocchi G, Poggioli G, Miglioli M, Campieri M (2000): *Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: A double-blind, placebo-controlled trial.* Gastroenterol, 119: 305-9.
31. Gopal PK, Prasad J, Smart J, Gill HS (2001): *In vitro adherence properties of Lactobacillus rhamnosus DR20 and Bifidobacterium lactis DR10 strains and their antagonistic activity against an enterotoxigenic Escherichia coli.* Int Food Microbiol 67(3): 207-216.
32. Gorbach SL, Chang TW, Goldin B (1987): *Successful treatment of relapsing Clostridium difficile colitis with Lactobacillus GG.* Lancet, 26: 1519.
33. Guandalini S, Pensabene L, Zikri MA, Dias JA, Casali LG, Hoekstra H, Kolacek S, Massar K, Micetic-Turk D, Papadopoulou A, de Sousa JS, Sandhu B, Szajewska H, Weizman Z (2000): *Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: A multicenter European trial.* J Pediatr Gastroenterol Nutr, 30: 54-60.
34. Guarino A, Berni Canani R, Spagnuolo MI, Albano F, Di Benedetto L (1997): *Oral bacterial therapy reduces the duration of symptoms and of viral excretion in children with mild diarrhea.* J Pediatr Gastroenterol Nutr, 25: 516-519.
35. Guarner F, Schaafsma GJ (1998): *Probiotics*. Int J Food Microbiol, 39: 237-238.
36. Gupta P, Andrew H, Kirschner BS, Guandalini S (2000): *Is Lactobacillus GG helpful in children with Crohn's disease? Results of a preliminary, open-label study.* J Pediatr Gastroenterol Nutr, 31: 453-7.
37. Hatakka K, Savilahti E, Pönkä A, Meurman JH, Poussa T, Näse L, Saxelin M, Ko R (2001*): Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: Double blind, randomised trial*. Br Med J, 322: 1327-1329.
38. Havenaar R, Huis in't Veld JHJ (1992): *Probiotics: A general view*. In: Wood BJB: The Lactic Acid Bacteria, Vol. 1: The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease, Chapman & Hall, New York, NY: 209–224.
39. Hilton E, Isenberg HD, Alperstein P, France K, Borenstein MT (1992): *Ingestion of yogurt containing Lactobacillus acidophilus as prophylaxis for candidal vaginitis.* Ann Intern Med, 116: 353-357.
40. Hilton E, Rindos P, Isenberg HD (1995): *Lactobacillus GG vaginal suppositories and vaginitis.* J Clin Microbiol, 33: 1433.
41. Hilton E, Kolakowski P, Singer C, Smith M (1997): *Efficacy of Lactobacillus GG as a Diarrheal Preventive in Travellers.* J Travel Med, 4: 41-43.
42. Holzapel WH, Haberer P, Snel J, Schillinger U, Huis in't Veld JHJ (1998): *Overview of gut flora and probiotics.* Intl J Food Microbiol, 41: 85-101.
43. Hosada M, Hashimoto H, He D, Morita H, Hosono A (1996*): Effect of administeration of milk fermented with Lactobacillus acidophillus LA-2 on faecal mutagenicity and microflora in human intestine.* J Dairy Sci, 79: 745-749.
44. Hoyos AB (1997*): Reduced incidence of necrotizing enterocolitis associated with enteral administration of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium infantis to neonates in an intensive care unit*. Int J Infect Dis, 3: 197-202.

45. Hudault S, Liévin V, Bernet-Camard MF, Servin AL (1997*): Antagonistic activity in vitro and in vivo exerted by Lactobacillus casei (strain GG) against Salmonella typhimurium infection*. Appl Environ Microbiol, 63: 513-518.
46. Isolauri E, Juntunen M, Rautanen T, Sillanaukee P, Koivula T (1991): *A human Lactobacillus strain (Lactobacillus casei sp. strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children.* Pediatrics, 88: 90-97.
47. Isolauri E, Arvola T, Sutas Y, Moilanen E, Salminen S (2000): *Probiotics in the management of atopic eczema*. Clin Exp Allergy, 30: 1604-10.
48. Isolauri E (2001): *Probiotics in prevention and treatment of allergic disease.* Pediatr Allergy Immunol, 12(S14): 56-59.
49. Kabir AM, Aiba Y, Takagi A, Kamiya S, Miwa T, Koga Y (1997): *Prevention of Helicobacter pylori infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model*. Gut, 41: 49-55.
50. Kaila M, Isolauri E, Soppi E, Virtanen E, Laine S, Arvilommi H (1992): *Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human Lactobacillus strain.* Pediatr Res, 32: 141-144.
51. Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E (2001): *Probiotics in primary prevention of atopic disease: A randomised placebo-controlled trial*. Lancet, 357: 1076-9.
52. Kim HS, Gilliland SE (1983): *Lactobacillus acidophilus as a dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans*. J Dairy Sci, 66: 959-966.
53. Kim HS, Gilliland SE (1984): *Effect of viable starter culture bacteria in yogurt on lactose utilisation in humans*. J Dairy Sci, 67: 1-6.
54. Klein G, Pack A, Bonnaparte C, Reuter G (1998): *Taxonomy and physiology of lactic acid bacteria.* Int J Food Microbiol, 41: 103-125.
55. Kolars JC, Levitt MD, Aouji M, Saviano DA (1984): *Yogurt – an autodigesting source of lactose.* New Eng J Med, 310: 1-3.
56. Leclercq R, Courvalin P (1997): *Resistance to glycopeptides in enterococci*. Clin Infect Dis, 24: 545-54.
57. Lilly DM, Stillwell RH (1965): *Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms.* Science, 147 : 747-748.
58. Lund B, Edlund C (2001): *Probiotic Enterococcus faecium strain is a possible recipient vanA gene cluster.* Clin Infect Dis, 9: 1384-1385.
59. Mack DR, Michail S, Wei S, McDougall L, Hollingsworth MA (1999) : *Probiotics inhibit enteropathogenic E. coli adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression.* Am J Physiol, 276: 941-50.
60. Majamaa H, Isolauri E (1996): *Evaluation of the gut mucosal barrier: Evidence for increased antigen transfer in children with atopic eczema*. J Allergy Clin Immunol, 97: 985-90.
61. Majamaa H, Isolauri E (1997*): Probiotics: A novel approach in the management of food allergy*. J Allergy Clin Immunol, 99: 179-85.
62. Majamaa H, Isolauri E, Saxelin M, Vesikari T (1995): *Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis*. J Pediatr Gastroent Nutr, 20: 333-338.
63. Matsuzaki T, Chin J (2000): *Modulating immune responses with probiotic bacteria*. Immunol Cell Biol, 78: 67-73.
64. McCracken VJ, Lorenz RG (2001*): The gastrointestinal ecosystem: A precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota.* Cell Microbiol, 3(1): 1-11.

65. Metchnikoff E (1907): *Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction*. In: The prolongation of life: Optimistic studies. W. Heinemann, London: 161-183.

66. Michetti P, Dorta G, Wiesel PH, Brassart D, Verdu E, Herranz M, Felley C, Porta N, Rouvet M, Blum AL, Corthesy-Theulaz I (1999): *Effect of whey-based culture supernatant of Lactobacillus acidophilus (johnsonii) La1 on Helicobacter pylori infection in humans*. Digestion, 60: 203-209.

67. Midolo PD, Lambert JR, Hull R, Luo F, Grayson ML (1995): *In vitro inhibition of Helicobacter pylori NCTC 11637 by organic acids and lactic acid bacteria*. J Appl Bacteriol, 79: 475-479.

68. Miettinen M, Lehtonen A, Julkunen I, Matikainen S (2000*): Lactobacilli and Streptoc? ?*

69. ? *ã ? ã* ? ? Õ

70. ? Õ ? *?* *?* ?

71. *? l barri*er: Evidence for increased antigen

72. sfer in children with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol, 97: 985-90. Majamaa H genes from Enterococcus faecalis NCTC 12201 to Staphylococcus aureus*. FEMS Microbiol Lett, 72: 195-8.

73. Oatley JT, Rarick MD, Ji GE, Linz JE (2000): *Binding of aflatoxin B1 to bifidobacteria in vitro*. J Food Prot, 63: 1133-6.

74. Ogawa M, Shimizu K, Nomoto K, Takahashi M, Watanuki M, Tanaka R, Tanaka T, Hamabata T, Yamasaki S, Takeda Y (2001): *Protective effect of Lactobacillus casei strain Shirota on Shiga toxin-producing Escherichia coli O157:H7 infection in infant rabbits*. Infect Immun, 69: 1101-8.

75. Oxman T, Shapira M, Klein R, Avazov N, Rabinowitz B (2001): *Oral administration of Lactobacillus induces cardioprotection*. J Altern Complement Med, 7(4): 345-354.

76. Perdigon G, Vintini E, Alvarez S, Medina M, Medici M (1999): *Study of the possible mechanisms involved in the mucosal immune system activation by lactic acid bacteria*. J. Dairy Sci, 82(6): 1108-14.

77. Perdone CA, Bernabeu AO, Postaire ER, Bouley CF, Reinert P (1999): *The effect of supplementation by Lactobacillus casei (strain DN-114 001) on accute diarrhea in children attending day care centers*. Int J Clin Pract, 53: 179-184.

78. Prajapati JB, Shah RK, Dave JM (1986): *Nutritional and therapeutic benefits of a blended spray dried acidophilus preparation*. Aust J Dairy Technol, 42: 17-21.

79. Reid G, Bruce AW (2001): *Selection of Lactobacillus strains for urogenital probiotic applications*. J Infect Dis, 183(S1): S77-80.

80. Reid G, Bruce AW, Taylor M (1995): *Instillation of Lactobacillus and stimulation of indigenous organisms to prevent recurrence of urinary tract infections*. Microecol Ther, 23: 32-45.

81. Reid G, Bruce AW, Fraser N, Heinemann C, Owen J, Henning B (2001a): *Oral probiotics can resolve urogenital infections*. FEMS Microbiol Immunol, 30: 49-52.

82. Reid G, Beuerman D, Heinemann C, Bruce AW (2001b): *Effect of oral probiotic Lactobacillus therapy on the vaginal flora and susceptibility to urogenital infections*. FEMS Immunol Med Microbiol, (in press).

83. Reid G, Zalai C, Gardiner G (2001c)*: Urogenital lactobacilli probiotics, reliability and regulatory issues*. J. Dairy Sci, 84(E Suppl): E164-169.

84. Saavedra JM, Bauman NA, Oung I, Perman JA, Yolken RH (1994): *Feeding of Bifidobacterium bifidum and Streptococcus thermophilus to infants in hospital for prevention of diarrhea and shedding of rotavirus.* Lancet, 344: 1046-9.
85. Salminen S, von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, Fonden R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland SE, Mattila-Sandholm T (1998): *Demonstration of safety of probiotics -A review.* Int J Food Microbiol, 44(1-2): 93-106.
86. Salminen MK, Järvinen A, Saxelin M, Tynkkynen S, Rautelin H, Valtonen V (2001): *Increasing consumption of Lactobacillus GG as a probiotic and the incidence of lactobacilli bacteraemia in Finland.* Clin Microbiol Infect, 7: (Suppl 1) 802.
87. Saxelin M, Rautelin H, Salminen S, Mäkelä, PH (1996): *The safety of commercial products with viable Lactobacillus strains.* Infect Dis Clin Pract, 5(5): 331-335.
88. Selmer-Olsen E, Sorhaug T, Birkeland SE, Pehrson R (1999): *Survival of Lb. helveticus entrapped in calcium alginate in relation to water content, storage and rehydration*. J Ind Microbiol Biotech, 23: 79-85.
89. Shanahan F (2000*): Probiotics and inflammatory bowel disease: Is there a scientific rationale*? Inflamm Bowel Dis, 6: 107-15.
90. Shlaes DM, Al-Obeid S, Shlaes JH, Boisivon A, Williamson R (1989): *Inducible, transferable resistance to vancomycin in Enterococcus faecium, D399.* Antimicrob Chemother, 23: 503-8.
91. Sheih YH, Chiang BL, Wang LH, Chuh LK and Gill HS (2001): *Systemic immunity-enhancing effect in healthy subjects following dietary consumption of the lactic acid bacterium Lactobacillus rhamnosus HN001*. J Am Coll Nutr, 20: 149-156.
92. Shornikova AV, Isolauri E, Burkanova L, Lukovnikova S, Vesikari T (1997). *A trial in the Karelian Republic of oral rehydration and Lactobacillus GG for treatment of acute diarrhea*. Acta Paediatr, 86: 460-5.
93. Shu Q, Lin H, Rutherfurd KJ, Fenwick SG, Prasad J, Gopal PK, Gill HS (2000): *Dietary Bifidobacterium lactis HN019 enhances resistance to oral Salmonella typhimurium infection in mice*. Microbiol. Immunol, 44: 213 – 222.
94. Sieber R, Dietz UT (1998): *Lactobacillus acidophilus and yogurt in the prevention and therapy of bacterial vaginosis.* Int Dairy J, 8: 599-607.
95. Szajewska H, Kotowska M, Mrukowicz JZ, Armanska M, Mikolajczyk W (2001): *Efficacy of Lactobacillus GG in prevention of nosocomial diarrhea in infants.* J Pediatr, 138(3): 361-365.
96. Tannock GW (1999): *Analysis of the intestinal microflora: A renaissance.* Antonie van Leenwenhoek, 76: 265-278.
97. Tannock GW, Munro K, Harmsen HJ, Welling GW, Smart J, Gopal PK (2000): *Analysis of fecal microflora of human subjects subjects consuming a probiotic product containing Lactobacillus rhamnosus DR20.* Appl Environ Microbiol, 66: 2578-2588.
98. Tissier H (1906) : *Traitement des infections intestinales par la méthode de la flore bactérienne de l'intestin.* CR.Soc Biol, 60 : 359-361.
99. Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL, Hanner TL, Lupo JV, Young RJ (1999): *Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children.* J Pediatr, 135: 564-568.
100. van der Waaij D, Berghuis-de Vries JM, Lekkerkerk–van der Wees, JEC (1971): *Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice*. J Hyg (Lond), 69: 405-11.
101. Vollaard EJ, Clasener HA (1994): *Colonization resistance*. Antimicrob Agents Chemother, 38: 409-14.

102. WHO (1995*): The treatment of diarrhea - A manual for physicians and other senior health workers*. WHO/CDR/95.3
103. Woodford N, Johnson AP, Morrison D, Speller DC (1995): *Current perspectives on glycopeptide resistance*. Clin Microbiol Rev, 8: 585-615.

Appendice 1

Liste des participants

EXPERTS

ARAYA, Magdalena
Institute of Nutrition and Food Technology (INTA)
Macul 5540 – Macul
Santiago
CHILE
Tel: +56 2 678 1468
Fax: +56 2 221 4030
E-mail: maraya@uec.inta.uchile.cl

GOPAL, Pramod
Senior Research Scientist
New Zealand Dairy Research Institute
Palmerston North
NEW ZEALAND
Tel: +64 6 350 4600
Fax: +64 6 356 1476
E-mail: pramod.gopal@nzdri.org.nz

LINDGREN, Sven E.
Swedish National Food Administration
Hamnesplanaden 5 75126 Uppsala
SWEDEN
Tel: +46 181 75606
Fax: +46 181 05848
E-mail: HYPERLINK mailto:svli@slv.se svli@slv.s

LODI, Roberta
Consiglio Nazionale delle Ricerche
Via Celoria 2
20133 Milano
ITALY
Tel: +39 02 583 56685
Fax: +39 02 583 56687
E-mail: R.Lodi@area.mi.cnr.it

OLIVER, Guillermo
CERELA
Chacabuco 145
(4000) Tucuman
ARGENTINA
Tel: +54 0381 4311720/4310465
Fax: +54 0381 4310465
E-mail: guillermo_oliver@hotmail.com

SAXELIN, Maija-(Liisa)
Valio Ltd.
Meijeritie 4A
00039 Helsinki,
FINLAND
Tel: +35 810 3813111
Fax: +35 810 3813019
E-mail: HYPERLINK mailto:maija.saxelin@valio maija.saxelin@valio

SERVIN, Alain L.
Faculty of Pharmacy Paris XI
Research Unit INSERM 510
Châtenay – Malabry 92296
FRANCE
Tel: +33 1 46 83 56 61
Fax: +33 1 46 83 55 28

STANTON, Catherine (Rapporteur)
Teagasc, Dairy Products Research Centre
Moorepark,
Fermoy, Co. Cork
IRELAND
Tel: +353 25 42442
Fax: +353 25 42340
E-mail: HYPERLINK mailto:cstanton@moorepark.teagasc.ie cstanton@moorepark.teagasc.ie

AUTEURS DES DOCUMENTS DE TRAVAIL

GILLILAND, Stanley E.
Oklahoma State University
Food and Agricultural Products Research and Technology Center
148 FAPC, Stillwater

Oklahoma 74078-6055
USA
Tel: +1 405 744 6071
Fax: +1 405 744 6313
E-mail: HYPERLINK mailto:seg@okstate.edu   seg@okstate.ed

MORELLI, Lorenzo
Istituto di Microbiologia UCSC
Vía Emilia Parmense 84
29100 Piacenza
ITALY
Tel: +39 0523 599248
Fax: +39 0523 599246
E-mail: morelli@pc.unicatt.it

REID, Gregor (Président)
Lawson Health Research Institute
268 Grosvenor St.
London, Ontario N6A 4V2
CANADA
Tel: +1 519 646 6100 65256
Fax: +1 519 646 6110
E-mail: HYPERLINK mailto:gregor@uwo.ca   gregor@uwo.c

SECRÉTARIAT FAO/OMS

PINEIRO, Maya
Food Quality and Standards
Food and Nutrition Division
FAO
Via Delle Terme di Caracalla
Rome 00100
ITALY
Tel: +39 06 570 53308
Fax: +39 06 570 54593
E-mail: maya.pineiro@fao.org

SCHLUNDT, Jorgen
Food Safety Programme
WHO
20 Avenue Appia
Ch-1211 Geneva 27
SWITZERLAND
Tel: +41 22 791 3445

Fax: +41 22 791 4807
E-mail: HYPERLINK mailto:schlundtj@who.int   schlundtj@who.in